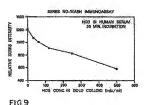
SURFACE-STRENGTHENING RAMAN SPECTRUM IMMUNOASSAY

Publication number: JP6174723 (A)		Also published as:	
Publication date:	1994-06-24		JP3444630 (B2)
Inventor(s):	PIITAA JIEI TAASHIYA; TOOMASU II ROA; JIEIMUSU JIEI	1	EP0587008 (A1)
	MAAKASU; TEREEZE KOTSUTON; BAANAADO	包	EP0587008 (B1)
	ROSUPENDOUSUKI +		GR3029912 (T3)
Applicant(s):	ABBOTT LAB +	因	ES2129474 (T3)
Classification:		2	DK587008 (T3)
- international:	G01N21/65; G01N33/532; G01N33/533; G01N33/543; G01N21/63; G01N33/532; G01N33/533; G01N33/543; (IPC1-		DE69323459 (T2)
	7): G01N33/533; G01N33/543	2	CA2105782 (A1)
- European:	G01N21/65D; G01N33/543K2		AU4625993 (A)
Application numbe	r: JP19930226084 19930910	2	AT176727 (T)
Priority number(s)	: US19920944138 19920911		

Abstract of JP 6174723 (A)

PURPOSE: To provide a method, a composition, a device an apparatus and a kit for determining the presence and the quantity of an analyte by observing an analyte-medium ligand bonding event in a test mixture containing an analyte to be assayed, and particles having a specific bonding position, a Raman active label and a surface inducing surface-enhanced Raman scattering. CONSTITUTION: A test mixture is irradiated with a radiation energy sufficient for emitting Raman spectrum being detected by a Raman-active label in the test mixture. The difference of detected surfaceenhanced Raman scattering spectrum depends on the quantity of analyte existing in the test mixture. Consequently, the presence and the quantity of analyte can be determined by observing the difference.



<< less

Data supplied from the espacenet database - Worldwide

特開平6-174723 (11)報許出職公開番号

(43)公開日 平成6年(1994)6月24日

(51)Int.Cl.

6-28h788

F

技術表示智所

9217-2J 厅内整理者中 8310-2J

G01N 33/533 33/543

審査請求 水源水 請求項の数20(全 21 頁)

(33)優先指主張国 (31)優先指主張番号 (22)出版日 (21)出版書句 (S D) 图米 944138 平成5年(1998) 9月10日 **沙斯平5-226084** 日11日6日本2581 (72)死明者 (71)出版人 391008788 アメリカ会衆国80084-3500イリノイ出ア ABBOTT LABORATORIES アポット・ラボラトリーズ

(74) KHA (72)56·98-37 弁殊士 川口 義雄 (M2名) ピーター・ジェイ・ターシャ トーマス・イー・ロア ク・ロード(春花の板ボなし) ポット・ペーク、ワン・アポット・ペー リー、レアーンデムド・ロード・985 アメジセ企終回、イジノイ・60(81、ガー ク・ピラ、ジェルデン・ロード・2161 アメリカ会衆国、ムコノム・60046、ワイ

(54)【始別の名称】 接着操作ラマンスペクトルイムノアッセイ

根據が検出可能なラマンスペクトルを放出するのに十分 バイス、装置及びキットを提供する。 物質の存在または言を検出するための方法、刺成物、デ 得る表面を有する粒子を含む試験混合物中、被分析物質 ラマンー活性標識及び表面-強化ラマン光度乱を誘導し 【雑成】本質製造合物に、質製造合物中の多マソー活転 一級介リガンド結合事業を概慮することにより、被分析 【目的】アッセイタスを被分析物質、物質的結合部位

な仮想エネルギーを振出する。表出した表面一般的ラン

ン教机スペクトルに於ける道いは、道教道合物中に存在

通いを影響することにより、後分者物質の存在果たは簡 する被分析物質の際に依存する。したがって、これらの

> 既勢し、次いで試験混合物中に存在する被分析物質の撮 クトルを生むのに十分な教皇エネルオーを試験指令物に し、結集中、ラマンー招名式構工機出馬舗なジマンスイ 誘導し得る表面を有する粒子を含む試験場合物を形成 会合により解体が形成される表面一張化ラマン光数乱を 的結合部位、ラマンー結合結構並びに、被分析物質、 または屋を検出する方法であって、試験サンプル、特別 選することにより、減額サンプル中の被分析物質の存在 しあれば特別的結合部位、ラマンー活性根拠及び粒子の 【語彙引1】 被分析物門一数介シガンド制合言条を制 [特許請求の範囲]

に於ける通いを観測することを含む該方法。 ご依存する、表出した表面一般元のマン製品スペクトル [超來明2] ラマンー指性標準が特別的な場合部位は

> 中の語合した森城代表分を物質・歴史年11のウトソー語 奴体を粒子上の特異的場合部位に結合させ、奴隷総合物

生態質が仮出可能なラマンスペクトルを発生するのに十

あることを特徴とする温泉町1に記録の方法。 【請求項3】 ラマンー括性標準が粒子にあることを特

数とする請求項1に記載の方法。

微とする講求項1に記載の方法。 を特徴とする請求項2に記載の方法。 【請求項5】 標識化特異的結合郵償が粒子にあること 【請求項4】 特異的な結合部位が粒子にあることを制

【追求机6】 特別的な場合指数が認識的数子にあるこ

及び被分析物質からなる第1の特異的な結合対の一方で 子の周方にあることを特徴とする諸求項しに記載の方 【請求項8】 ラマンー語性機識が特質的結合部位と数 あることを特徴とする請求項1に記載の方法。 【請求明7】 特異的な結合部位が、特異的な結合部位 とを特徴とする請求項3に記載の方法。

最終到1246へ

値を含むことを特徴とする請求項1に記載の方法。 【編求祭9】 減糖総合物がさらに第2の特異的結合部

別的な綜合部位と被分析物質からなる第2の特別的な影 【請求項11】 第2の特別的な結合部位が、第2の特 あることを特徴とする諸求項9に記載の方法。 即位と被分所物質からなる第1の物質的語合対の一方に 【請求項10】 第2の特別的結合部位が、特別的結合

概の方法。 既的な結合部位と異なることを特徴とする請求派9に同 合対の一方であり、第2の特異的な結合部位は第1の特 【請求項12】 第2の特異的な結合部位が表面強化ラ

ることを特徴とする請求項12に記載の方法。 ことを特徴とする請求項10に記載の方法。 マン光度乱を誘導し得る表面を有する第2の粒子にある 【端求項13】 第1及び第2の粒子が同一物質からな

マン撤品が記さることを特徴とする請求項1に記載の方 【講式風15】 さらにエンハンサーを循体に添加する 【請求項14】 照射エネルギーにより表面強化共働ラ

ことを含む語来項1に記載の方法。 【請求項16】 温騰混合物中の被分析物質一製介リガ 50

森横方第分を物理・態度等の指句の指揮が、複字を物図 び表面一強化ラマン光散乱を誘導し得る表面を有する粒 活性機関にしながっている機関化級分析物質ー製収体及 の存在により影響されるように、機構代表分析物質・製 子と接合した特異的結合部位を含む粒状期限試験を含む を含み、媒介分子を介して直接または間接的にラマンー る被分析物質エピトープを発現する被分析物質=類似体 あって、試験サンプル、特異的結合部位により認識され 減禁サンプル中の被分析物質の存在または中の銀河法で 返職指合物を形成し、粒子上の物別的肌合併位に対する ンド総合事象を観測することにより、体液から誘導した

に会合した粒子の分類段階をさらに合むことを特徴とす 合む販方法。 **選ー強化ラマン教机スペクトルの追いを掲載することを** 総合物中に存在する複分析物質に依存する、模出した者 分な仮例日ネルギーを選続組合物に提出し、決つた返職 る牌求項16に記載の方法。 【請求項17】 多孔性物質による、ラマンー活性根據

加することを含むことを特徴とする諸求項16に記載の 【類求成19】 さらに拡製指分物にエンミンサーを終 **ラマン仮乱が近をることを特徴とする請求項16に記載** 【消泉項18】 数銀エネルギーにより数点-進化共同

3 被分析物質の存在または整を検出する方法であって、基 質ー類似体に結合し得、頻振部位に固定化された振振量 アルから試験組合物を形成し、試験組合物を、複分教教 した特異的結合的位を含む粒状抽獲試薬を含む試験サン る表面を持つ、ラマン一強化療薬に会合した粒子に接合 分析物質=類似体、表面=強化シマン光敷制を誘発し物 ソドを行うを決める過ぎすることにより、「過業センレラ中の 【請求項20】 試験総合物中の被分析物質-媒介リカ

40 中の違いを観測することを含む返方症。 物質の報に依存する、表面一強化ラマン数乱スペクトル 機能位に規密し、大いで試験部の参手に存在する表分割 [0001] [発明の洋雑な説明]

スペクトルを発生させるのに十分な飲料エネルギーを抽 **街場へむかった回蒙院企物を燃かり:東田三郷なかとい** 物質上四数類フ:キャスタリー作用により近位器から温 **条を信号、適位指及び退位基を持つクロマトグラフィー**

及び表面強化 (enhanced) ラマン製品を誘発し得る表面 は、直繋サンプル、特別的場合等位、ラマン一番性標準 の新規方法、組成物及びキットに関する。特に、本発明 **製造合物中の被分析物質の存在または最を検出するため** 物質-媒介リガンド結合等像を問題することにより、対 【産業上の利用分数】本発明は、試験混合物中の被分析

特別平6-174723

8

9

下の鍵を表記するためのアッセイの根据として通常知用

を有する粒子を含む試験組合物中での、表面一強化ラマ

イを児路するための方法を包含する。本分別は、アッセ 結合分子及びリガンドの特異的結合対を使用するアッセ は、検出方法として表面一強化ラマン光数乱によって、 的結合対の一方は、特異的結合部位と称される。本発根 与する2個の分子は、特別的結合対とも称される。特別 【0003】結合分子ーリガンド網体を形成する際に図

イを実施するのに使用する物質及びキットも包含する。

異的に結合するように分子構造設定され且つ合成された

を「被分差物間:analyte」と単端する。 出、阿定または定量するためにアッセイ対象となる物質 近するための方法である。当業界の専門用語では、検 るため、及び/または(3)サンプル中の物質の鍼を摂 [0004] アッセイとは、(1) サンブル中の物質の 存在を検出するため、(2) サンブル中の物質を同定す 【0005】リガンド結合アッセイは、聚義物更に物に 8 アピジン及びピオチン)が挙げられる。 結合分子及び共通の最和性を有する他の分子(例えば、

在を検出するために、影響の自義、版、帰版等で日報的 s)、毒素 (toxins)、適往薬 (illegal drug) 等の符 イは、抗体、抗原、ホルモン、投業、毒物 (potson 重要である。近代の診療に於いて、リガンド結合アッセ

【0006】新規の、風吹な、それが高値でなく二つ田

るのにも使用される。 に於いて、地下水の形珠、毒素及び袋虫類をモニターす 計、工業的生物学的方法及び生物学的研究の多くの前導 **展送土地製に非限し得る。シガンド結合アッセイは、食** 他にすることにより、高フ人うのくラスケアを世界の発 で実施し得る。さらに、アッセイをより容易且つより安 れた情報を製者に提供することができ且り基当なコスト のようなアッセイは、励治に関してより多く回しより復 選なアッセイは、ヘルスケアのレベルを向上し得る。こ

特異性が得られるため可能となる。最も一般的なリガン 住に関係なく、その特別のコガンドに関して構成の語合 合分子がリガンドに対して開始性が高く、他の物質の存 田田ン都店しなければならない。このようなことは、結 下結合アッセルは、イユノアッセんである。 (被分析物質) を、非常に多難の他の物質の存在下で終 【従来の技術】多くのアッセイでは、数量の特定の物質 ÷ [0007]

特異的に結合し、リガンドとして個く結合分子となり これにより特別(的な新合対を形成する。抗体/抗災制合 【0008】イムノアッセイに於いて、抗体は、抗原と

間を測定するためには、特別的な結合剤の一方を過路回

g

ら市販されているThx (商標)、Imx (商標) 及びImx

【0009】直接イムノアッセイでは、特定の結合対の 示薬と呼称される。 出または創定する。特別的な結合対の根膜化部分は、特 在、即ち、これに結合する特別的な結合部位の存在を模 の影響的な性質によって、検出または測定すべきその行 振な物質が日本して、夢ち群議方する。追郷国語な物質

のエフェクター分子及びそのレセプター、他の分子に製 する複合痰水化物、ホルモン及びそのレセプター、 的語合対の他の例としては、フクチン及びこれらが語台 ドー結合アッセイの基礎を形成し得る。このような特質 る任意の2個の分子は、特別的結合対象含み等、リガン 体でなくてもよい。しかしながら、回いに製造館を有す 【0010】特別的結合対のそれぞれは、抗原または夢 する形形数の料合の即門規を撤近する。 セイでは、被分析物質による、特別的場合対の他方に対 他方に結合した指示薬の量を構定する。階級イムノアッ

は素並びにその特別な廃棄条件が挙げられる。 に必要な特別な観光後が確定の住意、このような影響な ある。これらの欠点としては、放射性物質の限り扱い気 し得る。しかしながら、RIAには実質的に多くの欠点が を使用する。放射性同位体は非常に少量でも検田可能なので、少量の減分析物質を検出または定量するのに使用 結合部位に結合する追跡可能な物質として放射性同位を て標識化特異的結合部位を使用する。RIAでは、特異的 ポイユノアッセイ(EIA)があり、いがれる哲序祭とし イ方法としては、ラジオイムノアッセイ(RIA)及び開 【0011】2種類の一般的に使用されるイムノアット

定性は低下し、基質変異速度は増加する点が挙げられ 度は温度感受性であり、温度が上昇するにつれて酵素を 欠点としては、酵素安定性及び基質変異(turnover)連 発するために基質物質を添加しなければならない。他の 接つかがないが、814方法は、核田可能な修ぶ反応を通 するのに鬱素活性を利用する。ElAにはElAが持つ欠点の 化製具的組合創設は指示隊として働き、その結合を検出 に結合する機道として酵素を使用する。この酵素・核道 可能な物質またはシグナルをもたらす特異的な結合部位 【0012】ElAでは、その基質が存在する場合、検出

実施し得る。このような装置の例としては、本出版人か たロボット工学が必要である。 は冗長な完全技能が必要を且じ自動化形式では込み入っ である。これは通常、アッセイを手動で実施するときに 結合機議化試薬とを分離しなければならないということ の地でに共通の天点は、要分析物質に結合するものとオ 【0014】 イムノアッセイは、自動化装器によっても 【0013】これらのアッセル構成(configuration)

可能なシグナルを発生する。このような設置は、被分析 中の複分析物質は、試薬と反応して多孔性物質上に根田 ルを装置に適用し、多孔性物質を通して流す。サンプル された試薬の付いた多孔性物質を使用する。試験サンプ はその中に含まれるマトリックス上の捕獲原位で固定化 ロースルー製剤は道院、その上にMを形成したか、また り発生した視覚的に検出可能なシグナルにより表す。フ 一」装置に適用し、被分析物質の存在は、着色反応によ 用して、試験サンプルを「試験片」または「フロースル

27226 【0016】近年、金属コロイド粒子を使用するアッセ

被扱)に対して少ない。従って、通常分析されるのはス

田可能で且し装置によって拠近可能なシグナルを形成し の蘇議的結合群位を超往化することにより、砲割的に移 を標識とする。免疫反応によって固体支持体上にこれら 着により金属またはコロイド粒子上に被覆し、金属粒子 イ方法が個別された。標識すべき特異的結合部分を、明

ンド結合アッセイで都議として使用されてる。 【0018】これらの結合分子ーリガンドアッセイは終 【0017】蛍光及び可視染料及びスピン標準も、リガ

検出または教促する手段としてラマン光分散を使用する 【0019】 アイリー新分類 と、以下に記載するようにこれらの欠点の乗しかを通り て、各々欠点を有する。標識化物質的結合部位の存在を

資米より、特定の分子が、光ピーム(異えば、美外、瓜

| 出版なると [0200] イン一段地で早季する。 **同一復長で全方向に放射(即ち、散乱)する。これをし** ことによりその元の振動準位に戻る。光量子は人形光と 合、これらは弾性衝突であり、分子は光量子を似出する らの描い複数単位は、仮の状態と単称される。殆どの場 りも高い振動作位に通券することは公田であった。これ らの分子の残つかのエネルギー等位が電子の基底状態よ 小理分は既じかの分子によった問題的に保存され、これ 親または近赤外)によって照射されると、入射光量子の

1928年、C.V. Bassarkt、特定の分子に照射すると、光記 **子を保持した分子のうちの少部分が、保持した光龍子を** s

ε

ベンチトップ免疫化学アナライサーシステム"、Clin.Cl 高橋) システム", J.Clin.lammessay, M.115,1931; 並びにM.Floreら、"The Abbott 18k (泰総高橋) 自動作 ler 5, "The Abbott Mx (4640) J&U Hx SELECT (555) Mr. SELECT (登録締御) アナライザーは、Charles H.Ke に於いて被分析物質認度を認定する。IMs(※前)及び 装置を使用して、体液(例えば、血清、血漿及び全血) LECT(登録過程)アナライザーが挙げられる。これらの

び「フロースルー」方法を使用する。これらの方法を供 em.、34、1726、1988に、記様されている。 【0015】 着の別のアッセイでは、米器「近畿下」及 8

物質の存在を定理的に検出するのに利用であることが記

トークス彼以である。

30 光法ほどではない。 **シトソ分光班言訳ける組版和は、光道コフにフールー**を 【0023】 芸雅ラマン権乱

も効果が得くなる。共戦シマン製品からの共田シグナル 共鳴ラマン放乱を使用すると、電子撮動吸収は約1000倍 何期した指動エネルギーに適いを示す。しかしながら、 に、人射光の被長が分子の最大吸収被長またはその近く 使用することにより更新された。その強力な干渉光は さらに無難的に強化する手段が提供された。 ら、近年、表面強化効果が発見され、ラマン散乱強度を 教的はマクグナラのため際にされていた。しかしなが を使用しても、分析手法としてのその有用性は、まだ比 乱を使用すると、再放出された光量子は、ラマン散乱は **ヤン版名を観察し得ることが知見された。共鳴ラヤン等** であると、分子内に当子値びに最勤巡移が生じ、共弘元 **ラマン分光法の感度の欠点の限しかを完設した。さら**

加することが知見され行る。全成表的は、数組全成役 接触しない)させると、ウマン光散剤の強度が非常に増 分子を特定の金属表面に非常に近接(しかし、必すしも 【0024】 表面強化ラマン概念

で"荒くする:roughened"か、または被覆しなけれは

特類平6-174723

ネルギー目し異なる欲吸さある。これをシャン数点と呼 れらの分子から放出された放射エネルギーは、異なるエ 放出した後も元の損害単位に戻らず、電子の抵抗状態の **得なった劉恩外包に終ちることを発しした。従って、**

いて、Ja底状態の分子数は、営に随起状態の分子よりも で月ネラボー部の収斂収容める。これはストークスーク 射光量子よりも低い被長で散乱する光量子(ストーケス 高い疲長で敗乱する光量子(反ストークス疲長)は、 率 (odds) は非常に小さい。従って、人材光量子よりも っていた以上のエネルギーをもって微乱した光電子の様 かなり多いので、問題分子と相互作用し且り衝突時に禁 乱と呼称される。通常条件下、任徳のセットの分子に長 この過剰のエネルギーを付与し得るので、基底状態に戻 第四段に減い機能等位にあるとき、仮田された光龍子に ちると、放出された光麗子は、吸収したところよりも何 (且つ短載長)であり、反ストークスーシフトラマン塔 る。この場合、摂田させた日本ラルーは、周日本のルー フトラマン放乱と呼称される。分子が光川子を吸収する 【0021】分子が電子の基底状態の高い振動単位に落

れる。これらの仮規シントは、分光計により滅死し他 ルギー、即ちこれから得られたエネルギー種を種子化す あえられる。しかしなから、煎の方在、煎えは、寒気に 手法及び、分子構造を研究する手段として有用であると る。シアン表現とは、特定の分子を練別するための分割 ると、不過院の徴取シレトを持し分費した光瞳子が膨ら 【0022】 このようにして分子に対して側吹したエオ

ならない。何既ロロイドも、このツグナラ基強気味を序

祭として最初に認識し、「表面強化シトン解乱」 年、Dr.Richard P.Van Buyneは、この効果を特徴的な場 す。強度は数百万倍以上のオーダーに利加し行る。1974 【0025】5285効果の埋由は完全には理解されている (322

地震子は、金属の、非常に参加性漢子を持つ数子を介し これらの粒子が、最も効果的であると考えられる。人動 い)として考えられる。人転光の被長の約1/10の直径の は微鏡なでこぼこを含む。これらのでこぼこは、球体 がSERSに寄与すると考えられている。第1に、金属表面 (ロロイドに吹いたは、回ち楕田などあるかそれに近

い。 つかつながら、発信、少なへとも2しの遊響の争実 という用語を作り出した。

が増加する。この効果により、粒子近隣の人勢光の強度 が相加して、分子の分散を誘発し、ラマン散乱光の強度 **選場強烈を大きく禁討させる。これにより双指子の援助** ラスモンの共鳴機能効果は、金肉表出の近隣に飲ける出 後子モーメントの辞事は、シマン仮名派だある。表面ア の機動電磁場を供給する。人制光による分子中の機動双 ラズモン:plasmon」と呼称される。入射光量子は、こ **うに作成し得る。このような集合的振動電子群は、「ブ** に対して集合状態 (collective fashion) で影響するよ は、表面電子群は、印加された(applied) 扱動電磁場 て知場を誘導する。 【0026】金国拠点等た存在子の形式の形装に示いて ξ

ラマン光の効率が非常に点まる。 に高める。この結果、表面一吸収分子により敷乱された て各部しな子のこのセッフランクは、最初の選手を持ち 面プラズモンに対して誘導または歪んだ双橋子モーメン 力を増加させて光を飲乱させると考えられる。他方、表 を製造する。 そのイメージ お近接 したてものた、分子の 接した双橋子モーメントを引し分子は、反対の物性(即 子は、分子イメーシンングである。 会算被国市非常市通 【0027】SERS効果に寄与すると考えられる第2の因 【0028】SEKS効果は、共鳴ラマン効果と組み合わせ プラズモン上の影双袖子)の表面上にそのイメージ

も見掛け上側加する。

15) 効果は、7桁以上大きいラマン裁乱シグナル強度に と、より強力になる。得られた表面強化共鳴のマン版乱 航起光の披長が放射される分子の主要製収器と共鳴する ることにより強化し得る。表面強化シマン底乱効果は、 (Surface Enhanced Resonance Raman Scattering: SER

または創定する方法を提供する。

[0029] ALL T - t A \ OSERSO MI

に、物理及び分析化学者により用いられて製造表面上で **的学反応を実施する。近年、ラマンー活性補欠分子団** 5585効果は、分子表面構造及び動力学を研究するため (prosthetc groups) (例えば、へム) を含む生物学的

分子にも適用されている。 【0030】今日まで、免疫診断に対してはSERS法は適 50

S

は無視し得る。異なる環境または異なる配向で結合した **製トシグナラに降与し、溶液中に残ったシグナラの海外** または近へで固定化したこれらのリポーター分子のみか な表面の近接会合に強く他存するので、SEES語性表面」 残しかの特徴的な技術が得られる。SERSシグナルは好る 用されなかった。 【0031】処疫診断に於いてこの方法を搬引すると

分子は、異なるラマン分散物性を示し得る。

析物質の存在または量をアッセイまたは測定する方法を 分析物質の屋に依存する道いを掲載することにより被分 **シマン分表スペクテラ中の、異類群の寄中の専用する数** 一を試験総合物に規制し、状いで、側近した表面一致化 可能なラマンスペクトルを生むのに十分な放射エネルギ ド結合事象を観測し、異体中のラマソー活性機識に表示 及び粒子を介む近畿端合物中の表分産物に一株介リガン 中、被分析物質、特異的結合部位、ラマンー活性概識。 [発明の概要] 本別用の一態様によれば、加製能合物 とを特徴とする粒子の間に脳体を形成させることによ 拡張サンプル、特異的結合部位、ラマンー活性根據 表面一弦化シマン光数乱を誘発し得る表面を持じさ

マン教机スペクトルに於ける遠いを観測することにより する被分析物質の間に依存する、検出した表面一般化ラ 一を試験混合物に照射し、次いで、試験混合物中に存布 可能なラマンスペクトルを生むのに十分な奴隷エネルギ 数減完減分差勢四一数数な上のウトソー店有数減に表出 ンド語合學保外院裁り、後いた試験媒合物中の結合した 紙ずることにより試験総合物中の表分析物質一整介リガ 異的結合際位を合む粒状顕微式薬を合む試験鑑合物を形 光散鳥を誘発し得る表面を持つ粒子上に固定化された特 る、但議に被分所物質=敷数体、及び表面=製門・サン 質=競技体の結合層は被分を物質の存在により影響され あった。粒子上の特別的な製合施信への跨域形態分析物 物質=指収体を結合させる構造化液分析物質=類似体で がり、次いで粒子上の特異的な結合部位に機識化被分析 子を介して衝接または間接的にシマソー語性機構にしな ープを発現する被分析物質-類質体分子を含み、媒介分 【0033】本発明のもう一つの態様では、試験サンフ 試験サンプが中の液分析物質の存在または量をアッセム 特別的結合部位により説別される被分析物質エピ)

制造選集と複分所物質を合む選集サンプルから連続場合 識も有する程子に接合した特異的結合節値を含む粒子状 化ラマン光散乱を誘導し得る表面及び、ラマン一括性標 アッセイまたは側定するための方法であって、表面一強 により、試験サンプル中の被分析物質の存在または最多 中の被分析物質-媒介リガンド結合事象を観測すること 【0034】本発明のもう一つの態度では、試験組合物

物を形成し、淡いで被分析物質に結合し毎日も指数器的

は大きくても小さくてもよい。被分析物質一類似体は

いで試験総合物中に存在する被分析問質の単に依存す 生むのドナ分な銃弾ドネルオーを装置部合に抵抗し、決 合物を移動させ、次いた検出回標なジャンスペクトルな いたキャピラリー作用により近回器から適位器へ近蒙然 に固定化された無機試薬を含む、近位環及び遠位場を持 つりロマトグラフィー物質上に試験社合物を展消し:次 表出した状態
一般的シマン数
地スペクテル
ただける

違いを観測する旅方法を提供する。 一括性機識で機識した粒子を含む、試験混合物中の核分 【0035】本が別のさらにもう一つの協議では、表示 ・強化ラマン光放乱を誘発し得る表面を持ち且つラマン

のに衛用すべき箇具物や単式する。 教物質一概介リガンド語合学後を表現することにより、 【0036】本が別のもカーンの機能では、近接場合物 国際サンプル中の被分類制質の存在または国を担託する

び被分析物質用の特別的結合部位を含む版キットを提供 により、国験サンプル中の被分析物質の存在または産を 中の被分析物質一概介リガンド結合事象を観測すること 面一張的ラマン光素机を開発し得る表面を持し粒子:及 **遡近するためのキットであって、ラマンー活気感識:老**

中の被分析物質の存在または量を検出するためのブッセ ける違い及び変化を観測することによる、拡張サンプル む、試験混合物の表面一強化ラマン製品スペクトルに於 ンプル、特異的結合部位、ラマンー活性標識及び、表面 るラマンスペクトルに影響すると考えられる。 **指合物中に複分析物質が存在すると、指合物から得られ** イ方法、非成物及びキットを包含する。 分散した粒子状 一張化ラマン光散乱を誘導し得る表面を持つ粒子を含 【好ましい機様の説明】上記の如く、本発明は、試験が [0037] 39

[0039] 定義 くの用語を定義する。 【0038】本発売の個々の態度の四級円過む銀円、多

本別議者中で使用する「被分析物質:Analyte」という

【0046】本明網書中で使用する「接種試験:captus 互いた近接交換されている命を指案する。 ated」とは、2個以上の分子及び/または粒子の状態が

目的で投与したもの並びに遠注目的 (Illicit purpose s) で投与したものを含む薬剤、禁生物、ウイルス及び 位(例えば、抗体)または特異的結合部位を製造し得る 質である。被分析物質は、天然に存在する特異的結合部 応する物質を指すが、被分析物質に比べその交子反応f 体」という用語は、被分析物質特異的結合部位と交送5 【0040】本明議書中で使用する「被分析物質一類句 機、炭水化物、ホルモン、ステロイド、ピタミン、影像 合む。被分析物質としては、蛋白質、ベプチド、アミノ 圧進の抗脳物質、ハプテン、抗体及びその組み合わせも 任識の物質であり標、複分析物質はアッセイ中で10以 川山は、木が別によって減壊サンプル中で校田される物 上記任道物質に対する抗体または代謝物質を含み得る。 Lの特異的結合即位と結合し得る。「被分析物質」は、

分析物質分子のフラゲメント化または合成部分を含み作 のエストープ部位をおし限り、表別後分析物別並びに施 被分析物質類似体が当該類似体と共通の少なくとも1つ 【0041】本明細番中で使用する「被分析物質エピト

装稿半6−174723

ratope」と呼称される。 一プ」という出版は、特殊的指台学後母に、特殊的リカ 特別的な組合針の一方のその部分は、「スラトープ 物質の結合導策場に複分差数質のエストープと接触する ンド総合対の一方と接触する被分析物質の一部を指す。

8 に結合し、これにより、特異的リガンド結合対の他方に れるエピトープを含むため、特異的結合事業で特異的リ 一プ、若しくは特異的リガンド組合対の一方により含ま 分無物にが報道、果なは認道と食力であずぶ!のドバマ の存在及び撤により影響される、特異的リガンド結合会 結合することはなくなる。 して、被分析物質は、物に特異的リガンド結合対の一方 ガンド店合対の包方によりその展別がなされる。結果と の双方間の特異的結合事象を指す。この影響は通常、 リガンド総合事象」という用語は、結合型が被分析物質 【0042】本別編集中で使用する「被分析物質一様が

引き続き表分析物質に結合し得るアッセイを使用し得 は、アッセイで使用し得る。例えば、補助的な特異的報 合態的は、指示機が強助的な物質の結合部のに結合し 年の一部でなる。10以上の補助的な物質が指合的合 合以外に使用される特異的結合物位であり、最終結合的 合総位」という用語は、捕獲試薬及び指示薬の物質的素 [0043]本料網、「中で使用する「利助的な物の解析

潤した粒子が固まりに集まる反応を意味する。 【0045】本明細書中で使用する「会合した:assoc 【0044】「戴集:agglutination」は、漢字中に職

議と、蛋白質分子 (例えば、抗体) またはリガンド e reagent」とは、実質的にM体の物質に所接または同 えば、ビオチン)との反応生成物が挙げられる。 の反応生成物及び、化学的に括性化したラマンー活性標 血路アルプミンと化学的に活性化したテオフィリン分子 形成した物質を指す。このような種の例としては、ウン d とは、一方の部分と他方が化学結合することにより 【0047】本明顧書中で使用する「接合体:conjugal イの結合及び非結合成分を分離するために使用し得る。 る特別的結合部位である。園相接獲試業領体は、アッセ 接向につなが得る、被分析物質または指示薬と結合し向

8 g) 、会合 (association) または凝集を助ける任意の表 存態的第十の第十条大兵務所指指にの中の名の(bindin hancer」とは、超級指合物中に存在するとき、搭級また 【0048】本明報番中で使用する「エンハンサー:en

3

質がある。エンスンサーは、液体蒸気の点、イギン型

後出り間な器調を含む。 **利利を存在すれば全国表出に直接または旧接的にしいた** 【0050】本期報書中で使用する「媒介分子:Interv 【0049】本明網書中で使用する「指示索」は、特異 む) が挙げられる。

ening molecule」とは、特異的結合対節位及びラマンー

へは概のロロイド:金、麹、麹、地つへは位得指指中 または表面一強化共鳴ラマン光散系 (SEEES) の現象を 中に分散可能で、「「ひ表面」現代ラマン光質肌(SERS) 活性機関の両方がしいている任意の物質である。 支持する任意の物質である。粒子の例としては、金若し 【0051】本明報書中で使用する「粒子」とは、液体

質のレフークまたは粒子も知識な粒子となる。 為行心子を示す物質の被覆した伝染が治子を示さない物 い。粒子表面はSERS及びSERRS効果と関連するので、伝 **子等にはフレークが挙げられるが、これらに限定されな** 【0052】本明器書中で使用する「放射エネルギー:

(conductance hand electrons) を示す任意の物質の数

形のエネルチーである。 在器調により表面=強化サヤン光数乱させる、舞踊液の 生させ、且つ粒子表面と会合した金属表面もラマンー従 その中のラマンー活性療護によりラマンスペクトルを発 radiation」という用語は、試験混合物に適用すると、 【0053】本明報書中で使用する「ラマンー活性標

リポーター分子を含む。 指す。ラマソー活性機関の他の用語としては、保料及び するとき、存在する他の成分のラマンスペクトルと議別 選」という用語は、適当な表表の放射エネルギーを振動 回摘で検田回信な少マンスペクトラを田宇任道の物質を 【0054】SERS語在表面が嵌近町がフーター表面接口

化される。 数乱)」が記さる。共鳴及び表面強化の結果、散乱が強 と共興状態にあるとき、「SERS(表面指化共鳴ラマン

数乱に於ける増加を意味する。 定の金属表面の近隣の特定の分子により示されるラマン 【0056】本別領書中で使用する「特異的結合部位 【0055】「SERS (表面-強化ラマン版品)」は、特

レクチン、机械的スクレオチド配列 (ターゲット核機能 結合対としては、ビオチン及びアビジン、炭水化物及び ある。抗原及び抗体一特異的結合対以外に、他の特異的 当や検担さられるのBMSスインコダイボーションアッセ より第2の分子に特異的に結合する2個の異なる分子で (Specific binding member) 」とは、雰異彩報告対の - 典、即ち、分子の一方が、化学的または物理的手段に

換えMA法またはペプチド合成により形成したものを合 部位としては、抗災、ハプテン、抗体及びその創体(自 ピトープを持つ限り使用し得る。免疫反応性特異的結合 質-斑粒存は、液分析物質と共通の少なくとも1個のエ **分析物質の認為体炎ればプラグメンド、即れ、減分療物** 的結合即位の数似体であるものも含み得る。例えば、被 挙げられる。さらに、特別的結合対としては、元の特別 一分子、酵素補因子及び酵素、酵素割害剤及び酵素等が む)、相関的人プチド配列、エフェクター及びレセプタ イで使用するプロープと指摘された核酸配列とを含

【0058】本明網書中で使用する「試験混合物」と 選アルプミンが挙げられる。 5、 Triton-X 100、ポリエチレングリコール及びウシ由 ように勝く位子(コロイドを合む)と一緒に処国する物 貫である。安近別の奥特別としては、Tween 20、Brij 3 川利として、動機板中では粒子が会合する傾向を下げる [0057]本明編書中で使用する「安定剤」とは、落

は、本発明を用いて検出及びアッセイすべを被分析物質 ベクトルを発生し得る表面を持つ粒子等が挙げられる。 ンー結合組織、職働後、希釈派及び表面一活在ラマンス 合併位、指助的な結合部位、被分析物質一類數体、多マ の指令物を指す。これのの物質の膨としては、學與的味 民工適用するために使用する試験サンプラと他の物質と は、試験サンプル中の被分析物質を検出するために本見 【0059】本別領書中で使用する「試験サンプル」

利用的を合われ、これらに限定されない。 任意の物質を含み得る。試験サンプルの例としては、 分析物質=製収体を干渉しない限り、被分析物質以外の 異用語合類信の特異用語合または被分析物質若しへは被 派を合む)であり得る。 試験サンプルは、他の物質が味 おち得、任意の大きさまたは容和 (例えば、液体の移動 に他の成分を含み物、液体、または固体の物理的特質を を自むサンプルを指す。以際サンプルは被分階物質以外 例えば、地下水若しくは鬼水、土場抽出物及び殺虫 直接、極密、極密、反、他の体液及び環境サンド

88 MAL 2- [4-ヒドロキシフェニルアソ] 安息香敷 [0060] 熟證 p-ジメネラア M ノアンくンホン

TMESA: 2.4.6-トリニトロ人ンセンスチャン機 NS. F85. lgs. 免疫グロブリンG、 肝気に ヒト甲状腺を摘まルモン ウシ血清アルブミン リン銀程で製造させた生理食程水

ピオチンーBSA-IMB ピオチニル化ウシ血清アルブミン 1.0. 国際単位 EF. MB-ITC. キシメチラアハノアンくシホンよ・インチメ ジメチルホルムアミド

とージメチルアミノアンベンセンム・インチオシアナー

器 ジニトロフェニル もう一つの好ましい整根 墨 ジュトロスンボン DMPーBSA ジニトロフェニル化ウシ血清アルブミン トとの接合体

a

8

特開半6-174723

々の構造体とするか、あるいはシリカ、プラスチック 漢、葬ち永陽)、フレーク、または他の民衆思ふさい治 若しくは粒子(例えば、分散したコロイド、粒子、液 し得る。これらの物質(例えば、説、金、翁、プラチナ 5) は、平坦な表面(治療、ストリップ、スライド5) 多くの金属物質及び形態を、SEIS活性表面のために使用

チック、概名物など)の後属し得る。 西な語の即向からいた別の「種の物質(シコセ、アラス) 体の形状を取り得た。強化できる表面または層は、特異 持するように活性物質(例えば、親、金等)で被覆した どの他の物質、または上記のラマン教乱の表面強化を支 は成形した) 片、スライド、ストリップだしくは球体な ed)構造(脱版した、開放された、回ぶ外しけた起し。 ガラス、観音しくは巨視的には平坦若しくは続(textus 議構の形であってもよい、金属のための不能位支持義治

ティングにより支持体上に沈舒し得る。凝後難したレブ 持体に沈朝し得るか、製は、蒸発若しくはスパッタコー は、金属の服体片の表面を電気化学的に「粗面化」し得 **小さな粒子に分割することにより達成し得る。実際に** ならない。これは、導電性金属(通常、銀または金)を の内在エネルギーが分散しないように具在化しなければ SERS効果を与えるためには、その表面プラズモンは、そ 常、表面強化に必要であると考えられる。表面に強力な る。以下の実施的に示すように、観覧子は、密楽から支 【0061】 光緒辺可能な表面プラズモンの存在は、道

いる。SEE (R) Sの記版とコロイド試験を指導合わせる 様に強いSERS強化が可能である。 たは球体で被覆し、火いや銀で被覆した銀液覆表面と同 リカ格子 (grating) は、衝撃若しくは杭で荒くし、 と、現在の臨床化学分析で使用するのと同様の方法でア と、容易に取り扱い等る液体媒質の技術を持ち合わせて ちる。金属コロイドは、非常に強力なSER(B)S活料 アッセイに都合のよい後直は、金属コロイド形の粒子で 【0062】本総当に特に合致したSER(R) Sベースの

は、アスログベード、シャフード、大様方々な挑音がは いるコロイドも、SERS及びSERRS効果を提供することが の観または金から構成されているが、これらの金属に限 水米ガスを使用し行る。製造法は、行られたSERSまたは を還元することにより製造し得る。種々の還元利、例え 公別である。金属の分散液は、所与の金属の非原塩溶液 定されない。例えば、解やその他の企業から構成されて 【0063】本列列で使用する金属コロイドは、元素を

シセイを実施することがたまる。

54127423 衛性のレトソー治抗機器、四地球性メイフンとラー吸り ながら、これは本児用を限定する因子ではない。従っ ば、粒子及びスペクトルが異なっていても使用し得るこ オキサジン725の20:1個合物のSEMSスペクトラによれ より製造したコロイドの別個のサンプルに吸着させた 2 て、実施例20は、シトレート協元及び水沸ガス協元の

ている。これらの場合にコロイドの仮定化機構は、 場合、選売例及びその数比別生成物、物に数比金属アニ は、特に、最元利を除去するか、最元利が低温度である **キン田米のアニキン店田米する気店指摘した坂田を持し** 【0064】通常、これらの適元技を製造したコロイド

8 の場合、「ポリマー作」という用語は、合成ポリマー分 円少なくとも物理旦間であるかまたは他別的である。 n)とは区別される。これらの部分は、殆ど通常、本質 という点で静電的安定化 (electrostatic stabilization れている。立体安定的は、安定的部分が無難していない 機器は、立体状態化(Steric Stabilization)と写像さ 的であると考えられる。このような機構の評価は、Pau 単には、その表面にしいた指揮性仮近に部分を持し2個 は、コロイド粒子の被固に粘合している。この機構の数 下若しくは炭水化物)を指す。実際には、安定化部分 ド)、または天然高分子(例えば、蛋白質、ポリペプラ 子(例えば、ポリスチワン和しへはポリコチワンキキシ 別にポリマー在であり、分散液の道路(即ち、路路)も **責されている。影響派士のロロイド数子の政技庁の物の** mistry. Marcel Dekker, 1977, 対39~11のに適切に記 C. Riemenz, Principles of Calloid and Surface Ch

8 化部分を懸機媒質中にそれほど指揮性でないようにでき 域に続ける影響性質の配列の既合いが規制する。これら 2個の粒子の間の領域で増加する。これにより、この領 近すると、安定化剤機能は、その分離影響の関数として の粒子に因して。説明できる。この2個の粒子がいいに接 7により通知に記載されている。 tabilization," J.Colloid Interface Sci., 58,390 is: レン、立体安定化の原理は、Denald H.Napper, "Steric! 作用しない限り、通常、道路部のイギン協議に破場でな が得られる。構造安定化は、安定剤の密開物性に大きく 名性非一部製態選集を提出すると、回復の非-安定化の共 別の指揮性は低下し、従ってその有効性も低下する。当 る。温度を室道から50~70°Cに上昇させると、安設 子に固定した安定化部分である場合、この一例が発生す た。ポリステフンメキシドが火中に懸縮したロロイド和 れ、これにより粒子の動力学エネルギーが増加し、安定 名の人の首を低下さきた力の例としては、然が挙げる 粒子を合体または会合させる傾向が低下する。構造安装 くなく、従って、これらの作用を近服し得る力がないと の出来事は、没過圧及びエントロパー的拠点から好きし

SERRSスペクトルの提供及び製成に影響し待る。しかし 8 乏 (depletion) 安定化である。この方法は、指揮性安 【0065】11日本下海中の対形式の約3の編制群、空

田がある。湖元保存下で合成した金属コロイドでは、ジ 代学級維結合を形成する額表面へのチオール場の相互作 非規則な言語語への会理の影響的な名字の指列作品が記 により何葉にしがぬこれがため、これにより、高減11の スルフィド即分をコロイドに原加回館であり、多くは金 きる。金属に対する化学販売の一例としては、銀一段資 る。これらの根据は、簡単な疎水性吸消または化学吸消 機関に扱わするか、またな会合する、「実有またなりか - ター分子」でも参照される会産コロイドを供用し答

特別的なy-グログリン)は、ウマン一語報的過ぎたは **仮定剤 (例えば、アルブミン、γ-グロブリン若しくは** 剤 (例えば、Tween 20苦しくはBrij 35) または天然の 果に対して感受性ではない。実際、市販の非イオン安治 **近代となり参る。これのの安近の欧維は通常、 イギン名** を提供できたり、指摘中で独立したままなので、望之安 するのが出発して、これが関子で行ぶって、日本政治的 と適格考えられている。蔡棻を貸に祭籍した金属コロム **和性を有し得るが、チオールよりも弱い相互作用である** イムノアッセイで物質的な結合成分としても作用し得る ドが凝集する。これらの場合、分散緩緩に安定剤を添加 アミノ湖)を包ろたいると、毎回の中街が増せてコロム 下に添加すると、この機関が反対の機関の場(例えば

の場合、仮装強化は10倍増加すると考えられており、2 1.17,pp.153-320,1984の総説では、その238ページにこ 室の循珠の出て名記された分子の強化シマンスペクトル ord Spectroscopy" ,Frogress in Surface Science,vo も一形は大きい範囲である。H.Metiuの "Surface Eman に現れ、泉の間の局部諸界の二乗は殿の場合、草原より **示している。景しい共居は単球の場合よりも低い指接数** 味としての挙動の明らかな最複とは非常に異なることを る際紀スペクトル及び局部総界(local field)は、平 たられたでる 2種のやおな (フイリー戦災) 以本に版す rface Sci.,110, 189, 1981の計算では、短い距離で展

は、甲根付近に配置された分子よりも100倍以上であっ

g

1、ディスパーズオレンジ3、IKM (2-(4-ヒドロキシフ

西教派を選売されてチャールを形成し、これが全国教派 る。例えば、本別別は、構成成分として、ラマン一活性 各々の仮派代表達によりそれぞれ異なった影響を促け [O O 6 7] P.K.Aravind, A.Nitzan&GH.MetiuS-OS 東村の海加朗に海加し物る。 で化学吸着される。アミノ基も、特定の金属表面上に表 性フクシン、シカゴスカイプルー、ダイフクトフッド8 事を高める。 により、SEBSー活性表面に特別的場合部位を提続し得 と表分析物質との相互作用により無成されたコロイドを

言語なる奴がない。この間の財活のは、非人をソ相かい **逆化部分も使用するが、これらは、コロイド粒子の表達** ロイド米の出気ガア的子類を根本的四枚更した。同様型 たことを記載している。ILMetinは、粒子の微燥は、コ 【0068】本研究に於いて、特別的結合部位と会合し 命の実法を志す原定では避けるべきであると指摘してい

S学製により後出回院な方法で変化することは推測し物 いるような感過後の匈奴力学的多数が、東非認識のSERR た。従って、以下のアッセイ災施制に於いて記載されて る。これは、コロイド表面を超近先されるその結合部分 作権的特別的場合部位を存出することにより影響を受け 仮合したシマンー結构機関のSERESスペクトラは、その た金属コロイドの表面の近くに配置された、即ちこれに

【0069】2. SERS―結性表前への特別的結合部位の 子の景台によるものであろう。

に被覆された物質的結合部位の共有結合的接続により、 風接着しくはリンカーアームを介してSMS-店在表面。 装、特異的結合部位への共有結合的接続により、または 直接吸着、媒介分子若しへはリンカーアームを介する場 おつへはソンカーアームの通信部分の指令表面への詳し

る多への分子であれば、いずれでもよい。 酢素イムノア ラマソー活性極端は、勢名のラマン仮名パターンを名す 【0070】3. ラマンー括性概認

製により化学的に辞解し得る安定さ、開発さ、安備な分 【0071】以下の特徴は、この適用に於ける極減の深 ッセイに使用する酵素と異なり、これらの軽減器は、必

[0072] (a) レーザー酸塩液長の近常にある強い 吸収帯 (的)起係数は10[°]に近い) であること: (b) 特別的な結合部位に共有結合し得る官能器である (d) 十分な表面及び共働強化により、サブナノグラム (c) 光収当性であること:

との間の結合相互作用の干渉が最小であること: 範囲の検出限界を有すること (1)使用した原始ー液長での強い蛍光放射が緑小であ (e) 極端化物質が結合部位と未確識化物質的結合部位

ニルアルソン核ーナトリウム塩、アルセンアン 1、 西塔 [0073]以下の、4・(4-アミノフェニルアソ)フェ かの指示分子を回路に分析し得ること。 ーンであること:及び/または (F)被乱パターンを持し商績が互いた干渉せず、残ら (g) 楽しかの強いパークを作る四数四箇単な吸信べる

か、または付着若しくは会合し得る。 **花鄉議社、当該特別的結合部位に共有結合的に接続する** ラマンー語性機関の有能な候補の総てではない。選択 チルアミノアゾベンゼンなどが例率されるが、これらが -ジコマロベンボン、クフシタベイキフット及びprシメ ブルー、ボンソーS、ボンソーSS、1,5-ジフルオロ-2. ェニルアン)-安息香敷)、エリトロシンB、トリパン

なレーザーの使用参合は50,000時間以上であり得る。 またはダイオードレーザー)であってもよい。このよう る。レーサーは、安備な型(倒えば、ヘジウムーネギン 好きつい場合に対いた、フーターは関心域とつで作品を [0074] 4. ISBC38

包光である必要はなく、高極度である必要もない。ラン 館光干渉を減小とする。使用した数域深は、必ずしも甲 用して、IRスペクトルまたは近IRスペクトルで結婚し、 【0075】一颗液に吹いて、ダイメードワーガーを向

ent)被長により開起され得る。 はプラズモンー括性表面の下の等後数から選失(evanse [0077] 5. 接合体 【0076】SERS効果は、表面の直接照射により、また

被分析物質を同時分析できる。 セイで混合すると、同一サンプの中にある数据の異なる は、別個の散乱パターンを持し。これらの接合体をアッ 何かの数語がき、異なるシマン把辞祭属を持じその名々 数据の記録を接合する、基本の政府をなしまり記述の記

の概念が関係された。これのの魅としたは、反対当所的 ソー活性物質を使用すると、この測定が容易である。 定しなくてはならない。 ストークスシフトの大きいラマ **クグラウンドの存在下で、被長がすれた数別の雰覚を視** 定するものである。SEESは、職長ビーム由来の強いパッ いて、基本装置は、特定の液量に於ける光散乱強度を擦 これらは道法、様々の型の分光計を用い引る。SEBSに整 **ラマン散乱を検出するには、数担の方弦を使用し得る。** [0078] 6. 採出 【0079】設度装置をさらに開場化するための残つか

して実施されており、ピームに対して90°か180°での 対し60°にレーザービームが人制する早用な表面を使用 の角度も検出器の位置も重要ではない。通常は、単直に グラフ光学素子を使用することも包含する。 ミラー、フィルタまたは際乱した光を集めるためのホロ 【0080】SBSを使用すると、表面への人材光ピーム

光学導液管により得た消失液を使用するSERSーベースの であり、これによりサンプル回右の強光をカットする。 検出が標準である。SESM記は、近赤外領域で実施可能 Š

リガンド結合アッセイを実施することも可能である。 間の田田>な別 非常に強力を配子的数元が指さない限り、シグナルの近 ナルの発玉 (development) 時間は必要なく、脳起光が 【10081】別条時に記扱が振ちに開始するので、 データを収集し得る。シグナルは、光

る。SERS一括性表面近くの蛍光分子は、実際に表面一部 sencial ではないので、シグナルは、プロープ分子上の **レマンリボーター 端敷を勘回がせることにより指行し何** 系と別なり、SERSリポーター从は、「i己ー前光(self-q 学販収に依存する所に於いては重複できない。 蛍光開発

ケスーシフトスペクトル製を制造するので、初込な単位 本発明は自動分析器に適用きる。本装置は別個のストー 【0082】7. 数量構成

5 まか可能である. **概よりも安価なコスト及びより拠末で好適な分光計の**額 ば、ホログラフ光学素子) にょり、原気倍グワードの後 系の必要はない。光学技術に於ける近年の進歩 (例え

ブも使用し得る。

ムギード後田類を合む。原院後グレードの分光学を宏正 用されている数種のIRRS分光計は、シリコンフォトダ 超高級受性光量子出数器のを必要とする。実際、現在数 【0083】SBSの結果として光学製成エネルギーは

8 cy) は、105未満である。上記した光学物質及び成分の 進歩により、残しかの特異的スペクトル後のみを肥る数 されている典型的な単色光の光学物等(optical effile

クロマトグラン語のアッセイにはり減聚キングラ中の数 ると、かなりコストを削減できる。 典型的な単色光系の1段階以上のフィルタの代わりにす る。10°のボーダーの道機能力の差しいフィルターや 明の出述は1920年し、フルン一般認識の過渡でも因為 単な分光器の光学効果を2~3倍期加し得る。これは 【0084】8. 分析用装置

3 第267、006号も重要である。 66,241号、欧州特許第88.636号、阿第259,157号及U目 688号、同第4.517,288号、同第4.740,468号及び回第4.3 **イ原理についてさらに記載している。米国特許第4,288** umentation" ,Clin.Chem., 31, 1144, 198541. aphy. A quantitative Imanoessay Requiring No instr に記載されている。Zukら、 Trayme immunchromotogo 各变形は、米国特許第4.366,241号及び阿第4.186.146号 掲標書中参照として含まれる。Deutschらの装置に対す 回避4.361,537年に記載している。これらの文表は、 にしいた米国物評版4,084,647号、阿糖4,235,601号及び は、Doutschらは、クロマトグラフ温暖ストリップ製浴 分析物質を分析する遺常技術は、従来公知である。

[光器包] [3688K]

Type 124) から知り出した水温率であった ンチ×4インチ×20ミルの水環場材(GeneralElectric から切り出した平坦なしや出ししたガラス片または4人 支持体表面一個フィルム用の支持体は、劉微鏡スライド

g 【0087】任学的这道一别是O'Cotton (Anal.Chem.

演集を使用して観を広着させた。Tollen温素は、小さな 58、3159、1986)により既に記載された倒載組を化学場

の場合的機が形成した。この形態の大は、機能・国を施 液を約10液添加することにより製造したもので、値茶色 ビーカー中、10mL 2~3 SkgMb 搭後に新しい 5 Skka0H名 元することにより支払体表的に製を洗着させた。Toller

下添加すると、この時点で沈澱が再治罪した。適用なで

[0092]

れた典型的な数径は、20~80mであった。 製せずに使用するために貯蔵した。この製造法から得ら

nicator, Model 822-4,125更) した。 以教的に、第一被囚 輝する他、敷料臨淄衛水中に保存した。この方法を使用 **移間超音波処理した。次いでスライドを吸着資格後に襲** に1分間設置し、次いで1分間超音波処理 (Branson Se から外し、策議に鉄道させた。ピーカーを水浴(55°C) た。104 D-グルコース 3 mlを、確実に進じるように注 入れられるチフロン製存に設備し、Tollenは集中に入れ することにより、スライドは崇田大中や1国国家が安定 したスライドを蒸留水で数回洗浄し、 再び蒸留水中で30 模様へ灌物をあらだの存営つち。してムルーゼーも光箔 及び巡告水で流がしたしや出りしたスライドを15枚また Hen試験を合むに一カーを米路中に設置した。その密度 製造した。 のスペクトルと比較し、顕微度を測定した。 エリスロシ 接合体の集外及び可観スペクトルを、DAR及び抗体単細 リコートを原加した。混合物を一発提詳し、次いでSeph 人ンカント・人ンチャッドナー下 1 mg/ml 指摘の20 p 1 ア 染料-抗体接合体の製造 ン-抗体接合体を、DEF中のエリスロシンーインチオシア adex G-25 (流い) カラム (1×30cm) 上で観覧した メチルホルムアミド (ME) 中の4-ジメチルアミノアソ 抗体 (2%) を15%部の ナートの値位が2.5mg/mlであったUONには、同一方法で しの場別と (pH8.6) 2mHに函解させ、ジ

1)。炎針で表面を引っ掻くことによりできた鏡唇の原 かになり、その残つかは高さ10 畑に達していた(図 **資料する相回対機機プロープにより、多への処理が配**る 概能により伝へ、粒状であることが知見された。 安何を 【0088】表面は逍遥光では黄色であり、走査電子類 直径約100msの一部署合した数球組になったい ン (2ml) の密液を、蒸留水 (100ml) 中のウシ血清アA エタノール (150ml) 中の2, イジニトロレルギロベンゼ のジニトロフェニル県 (MF) の接合形成 IW-KA接合体を形成するためのウシ血道アルブミンへ

であることが知見された。

俗に拡大した走査指子指徴減から、微別の特徴のない姿 した。銀フィルムは道明で、透道光では消かった。2500 ティングにより、水晶片を銀芯オングストローム層で装 -Elmer Bandex Model 2400-8SAを使用してスパッタコー 【0090】銀鐵艦-銀電艦を、Ni及Ufotton, J.Sami 【0089】 スパッタコーティングー根ターゲットから Spectroscopy, 19,429, 1988に記載の如く製造した。こ 階級力200%及びアルゴン構造12.25cc/分を使用 2.25rpmで4.5分回転させながら、Perkin 口払の導入を示していた(ゲータは示されていない)。 合んを室温を実施した。選択パッグの内容物を固体とな 場合以外は、総ての溶液中に0.02Kアジ化ナトリウムを 水 (PBS) 6リットルで23時間透析し、次いでPBS2リッ の強い複動形は、天然WSAに関行のものではなく、ニト をNicolet 60 SX FT 赤外分光計で測定した。1340cm 以内おこむ4人ファ下百円落つれ、中の孝太ス人クマラ るまで政治的気にもると、13kgとなった。サンプルを 々6時間2回送折した。通析は、最後の水2リットルの トルで名々6時間2回、最終的に蒸留水2リットルで名 て、沈城物質を除去し、上部をリン教科を根拠させた場

言が引うな言なした。

6.75cm難して、

質の相面度は約130mの厚さであることが知見された。 **らことが思らかになった。※参引っ類へ概念により、場**

適合物を24時間排料し、3000×gで20分間適心分離し

ブミン (200mg) 及びMan CO. (10g) の遊儀と総合した。

としてPt協議を使用した。機化段階時に通過した全額得 を結画化した。参照結構としてAg-AgCI装備、接取装備 仮服からなる、敷宄ー臓ボヤイクラ(ORC)により指揮 開始総位 — 550mV→+500mV及び — 550mVに戻す住職総位 核へ際式した。この段階の次に、0.18 %s S0.蒸液中 中で継ぎ、超音波処理して、表面に付着したアルミナを 由アルミナスラリーを行けて韓陽を避め、火いで接座火 の寸法の成方形であった。グラインダーで、水中0.3μ シールすることにより構築した。露出面は、約2×10mm れらは、端平四級のワイヤをガラス質内にTorrシーチに BSAの耐熱度は、BSA及びニトロ-BSA接合体がそれぞれ2 れはTMESAIA様とインキュベーション後かも料加しなか に於ける当初の機模が1.2であった(阿伊藤由米)が、こ 影響される同台いを比索することにより定めた。THESS 4.6-トリニトロベンゼソースルホン酸 (THESA) により で、Sanger近後により間下が延歩年形長ときたと物理で った。本質的にTMP-MSA接合体中の有効なアミノ基は終 だ残扱は、遊館アニノ基が誘導体形成された結果のから との反応後、天気85Aの 1 mg/m1搭張の330mmに於ける平 .5に増加した。129-85A接合体の同一適度では、330mm

は、2500 cm" にうしかった。 【0091】 劉コロイドーLec及びWeisel, J. Phys.Chem 8

特閣平6-174723

エジトロベンゼン (IMB) 新しく製造した銀ー被覆スライド(化学沈和)を、遊ぎ 握フィルムに吸着したDEP-DSA接合体によるSERSスペク (四2 A) またはINP-ISA接行

B溶液は、非常に弱いラマンスペクトル(図2C)を与 BIS強化を示し付る。以降分のないフィルムの10°M IN 塔に強いことを示しており、したかってそのMV部分は2 は、フィルム表面の時期分に対する後者の表面能力が示 化ラマン光酸剤の比強度に於ける 4 桁もの大きな違い 場とMP−KA接合体のMP部分の間に知見された表面−強 UMP-BSA 10 Wで同様のピーク強度が得られた。近難3 た。各々MP部分(2×10°KA)に関してDNS 10°NR トし、次いで両方の場合についてSBESスペクトルを得 环 (四2B) を含む装御板 (pBB.6) 中セインチュ人-

出世紀第四次 表面-強化共鳴ラマン分光学を創証するためのラマン-8

の非一存在下では、アピジンー被機した銀フィルムは m の大きなピークは、もはや知見されなかった。HABA に知見された。アビジンの非一存在下で知見された1408 は1610cm に、挽つかの小さなピークは1160~1491cm る。これらの条件下では、ラマン数乱処度の主要ピーク 必能人ソチュ人ーツョン外装装つと等のされらのかめ 一、次いでM&Mを約0.3mMの終鎖度に添加し、さらに20 20分間、アピジン2.5×10^{*} 整然後中やインキュムート れた。図3Bのスペクトルは、銀フィルムを共ず光道に 単一主要ピークが被数1406cm。で知見され、1549cm に ショルダーが、1188及び1139cm。に弱いピークが知見さ させるときに得られたスペクトルを示す。光散乱強症の 定した。例3Aは、BABAを練フィルムの表面に直接吸収 から除去し、PBSで洗浄し、そのラマンスペクトルを測 たインキュベーションした。 XvかフィラムをBNBA搭接 なして化学的に沈頼した親フィルムをIMBAの3MI溶液中 495mm)を有し、SERRSが可能である。 クトル吸収(pil 7 でアビジンに結合するとき、最大級的 ラマン光教乱を副結するのに使用し得る波長に主要スペ 親和力定数で架料BABA 4分子を結合する。この架料は アピジン分子は、pi7.0でKa=S.8×10゚リットル/nolの 【0096】アドジンかの予選コーティングをりまたは

この領域では認識し得るスペクトルはなかった(図3

サンドイッチイムノアッセイに於ける泉料-抗体接合性

初期46-174723

2

60 p IU/m1中で37℃ 1 時間インキュペートした。PSSで 3 Abbett No.8207からのTSB抗体標準の、4、10、25または の5個数の資産に関して図4に示した。1151cm に吹き 型的なスペクトルの指在プロットは、試験したTSHRJ原 所の異なる場所で創定し、結果を記録した。得られたま 【0098】SERSスペクトルは、各当機に沿って5円 ンキュベートで、再花浴で、SERESK人のトラ条等な。 体1m1を含む返棄物に移し、37℃できらに1時間と 国院渉後、フィルムを40 μ g/n1の遺版で約-TSB抗体接合 ートした。次いでフィルムを、Abott TSH ETAキット 次いで255中の1835年さらに1時に37ででオーバーコ の1mlアリコート中、3TCで1時間インチュくートウ

お生は其たの間の単一項の近かれよるのだろう。 アッセイをは結果に影響しなかったれロ機等域料と組の の別収は、再び試験しても不変だったので、軽素イムノ られたものと似ていることが知見された。この高い七日 **酒り値だめる以外には、舂米イムノアッセイによって包** 用して得られた応答は、近日抗原療剤に関して例外的は 図6)。 2つのプロットの比較から、SERSの誤取を使 ノアッセイを担当してアッセイした(Abbott No.8207、 った(図5)。同一森牟波が水、流形した右阪都県イム 4年払バーク複数を依旧した、ツグナラ的確似但要を作

発揮なしの人とノアッセイ 【実施例7

mg/ml) 名0.015mlを添加した。抗体一被職ノルの別を **光理受益ホラホン抗年(3)と概型を施施された50米中** ロイド結構の3.0mlアリロートのそれぞれに、近一七十年 分、30±5端航倍) に添加して、終週度1減とした。 1%アスコルピン製箔薬を、第コロイド(約0.028回形

風を示した。 403cm のラマンシフトに於けるシグナルが約2倍の6 は、MR放料のスペクトルに於ける最強ビークである、 ルと比較して60 p.1.U./ml IESHを含むサンアルに関して ンスペクトルを記録した。結果は、0 pl.U./alサンプ 凝加し、インキュペートした。20分後、表面一弦化ラマ 抗-TSE (DAB-ANTI-TSIO 扱合体O.015mlを名サンプルに 中に含まれていた。ロージメチルアミノアゾベンゼンー 15mlを添加した。両方の標準は、プタ血清マトリックス 添加した。第2のサンプルに、0 μ1.0./mlHIST標準0.0 1.U./a1ヒト甲状間参議センモン (HTSB) 泰年0.015a1を リン敷塩級強液で7.4に調節した。 [0100] 抗体-被機ゾルのサンブルの一つに、601

高し、1.08mに於けるM:YagレーゲーからのM伝を使用 方外の行名をつち張レムラスや、キュムシェモの矢ろ前 近赤外職起を用いる毎日質-強料接合体に於ける5回5の

8 したBoness ラマン分光計を用いてSEESスペクトルを記載

線電機を、155aHOb、pHB.6中20μg/mlfi;-TSB抗体溶液

した。ランダムノイズと鑑別可能なスペクトルは本質的

使用した (四7の下側)。 上記プランクで使用した銀フ な使用し得るスペクトルはほとんど無かった。このデー になかった。蝦麦伯の非・小在下で、p-ジメチルアミノ イラムや、柴料・蛋白質接合体を合むチュベットに適加 タを何禁したプロットし、 実験言題したプランクとして mg/ml)も走査した。使用した遺貨をノイズと区別可能 アンヘンカンーもツ由指アラアミン核合体の水溶液(Xi

例) が得られ、これは、1400及び1144cm のラマンシフ トに於いて強いラマン数乱を示した。 データを招降すると、深料のSERSスペクトル(図7の上 し、ラマンスペクトルを推出した。プランを返録からの

荷彦な1000mlの丸底ワラスコをAlconox (登録感根) 石 会コロイドの製造

が、機能的コルベンダーー歩に吹せることにより組らか ウム溶液3.8mlをフラスコに添加した。20秒後にコロイ るまで加熱した。金塩溶液、次いで1.0%クエン酸ナトリ ロロ金数川水合物 (0.058g) を旅留水 5ml に浴解した。 下の形成が、明るい質由溶液から以下の由:難→沢由→ チックスターラーと加熱マントルを装備した。 チトラク **級で洗浄し、数回、蒸留水で進いだ。フラスコにマグネ** プラスコに蒸留水500mlを逃たし、抵押しながら消費す

抗-航G会コロイドSERS試験の製造(方法1) 60mm開始であった CONSESSION

になった。凝集は視認できなかった。この方法により作

減したサンプルの電子顕微鏡分析から、粒子は直径50~

ラ抗体的 #1条浴をつた。 樹々のロロイドキンプラを装 ーナル院体的plを、他方のサンプルにはモノクローナ 1サンプルに区分した。一方のサンプルには、ポリタロ NaCI中で1.00mg/mlに希釈した。全コロイドを2つの5m 0に調節した。ヒト級必搬ゴナドトロピン(近0)(この 人一下つれ。 インチュ人 ーツョン核、10g/1のボンドル やかに挺難しながら適合し、次いた帰還で10分インキュ ナラ完保に街方はボジクローナラ技術)を、影響言論 質的に指出する 2 模型の研修(一方はマウスモノクロー 武衆を用いる武装に於いて目的とする被分析物質)に特 金コロイド (10.0ml) を0.02M % 00 を用いてpH6.5~7

0.2g/1 カーボワックス 2回で顕敬した。 スフットや漢 た。故画-梅化ウマン教乳分光によりアッセイの教用を がを全体で3 H版り返した。 抗体を含むソルを用場合し やかに振躍しながら再分類をせた。この適心分類及び的 すると、はっきりとくフットになった。上遊を祭出し、 サコスートつだ。インチュスーション後、金コロイドや 5mlのアリコートに添加し、これらを短指を1時間イン に3el遠心分離皆に移し、約5000×gで5分間遠心分離 s

することにより迅速に読み取った。最後のピークは、64

近土部(金コロイド気器を試薬の製造 (方法2) 等服を使用的に一緒に混合した。 るためのコロイド試験を存るためた、2種数のコロイド (ポリクローナルー被収及びモノクローナルー被収) の

5 第)に特異的に結合する2種類の抗体(一方はマウスモ ~7.0に規則した。ヒト製造製コナドトロピン (現場) 金コロイド (30.0ml) を、0.02# % Ob を使用してpH6 ノクローナル抗体で他方はポリクローナル抗体) 冬、娘 (この減炎を引いる減級に於いて)|的とする彼分虧物

近年190 μ1を添加し、他方のサンプルには、モノクロー た。モノクローナル抗体は、0.250 pg/slの濃度に、5 m 適成に、0.01Mクエン機能衝後 (pH5.3) 中で格扱し 銀に希釈した。ポリクローナル抗体を、0.250μg/s1の ンプラに分かれ、一方のサンプラには、ポリクローナル M NaCl (pdf.0) 中で希釈した。金ゾルを2つの15mlサ

中10g/l, pH7.2)と原拠した。ベレットを緩やかに振揚させながら再分散させた。遠心分離を2回撃り返した 成した。上浦を除去し、カーボワックス 20M (Salf NaC ×gでも対抗弱力分類すると、あまらかに人フットが形 ン後、会コロイドを1.7m1週心分離物に添加し、約5000 格別組か1時間インチュスートつだ。 インチュスーツョ 8 中10g/1のポリエチレングリコール (カーボワックス 20 ートつち。 インチュスーション後、Sull NoCl (pill'.2) することにより混合し、次いを発温で10分間インキュベ ナル抗体300μ1を停留した。名コロイドを緩やかに指摘 搭表300 μ1を名15mlのアリコートに存加し、これら

[0105] の等量を使用前に一緒に混合した。 するためのロロイド試験を与るために、2種類のロロイ が、今回は、上沿を0.2g/1のカーボワックス 20年、86回 **した。表面-強化ラマン被乱分光によりアッセイで使用** NaCl. pHT.2で直換した。結体を含むコロイドを再提的 (ポリケローナルー被覆及びモノケローナルー被覆)

オフット保料由米の表面一般化ジャンスペクトルを記録 四つた。影響派を強導が会ねがの適合し、クワツルバム び、調金物から日子がも際式つ、、川透暖和下原管し、 ケフツランスギフシマが指摘(1.35 μg/al) 5 μ1を終 ロイド免疫試験200 p.1を添加した。試験を実施するため 所与の遺版のHC編単域料10 g 1を添加した。これに全コ エルを試験用の混合チャンパとして使用し、各ウエルに あり、存在するHDGのレベルのみが違う。ミクロ遺流や ており、そのため名サンプル中の担日質の全職は同一で WESTSの小容量を大容量の血清に添加することを包含し 1000及び2000al.U./alで作成した。この毒製操作は、源 HDG標準溢料を、ブタ曲譜 0、31、63、125、250、500、 EDGに関するSEERSの統合なしのイムノアッセイ

レングリコール (カーボワックス 20MO 溶紙100 p.1を名

少し、図8に示されるような標準アッセイ曲線が得られ

た。銀近したビーク指弦は、田袋別位の国際に従って神 7.1mの創起液長由米の501cm のラマンシフトであっ

無した 既近間する2382を含なしイムノアッセム . HCG標準減期はブタ曲語の代わりにヒト血語で作

を図りに示す。 以外には、実施例12を繰り返した。標準アッセイ曲等 . 各標準5 p1を、10 p1の代わりに名ウエルに添加し

【実施例14】

ートで10回催いだ。ついで、これをAlkonox (登録法 及びスターラーを水道水を流掘した水の約1000mlアリコ 後の概を自由に動くように付け、これらの2本の概が 下心みた第七回の落下この既下さら下2歳の1 イソチゼ 環を融合させたガラス帯からなっていた。 キーホルダー した。ガラススターラーは、橋に直径1インチのガラス **ーラー**─式を、王水中―衛波浪することにより予備記述 1000m1のパイレックス製の丸底フラスコ及びガラススタ "抵好棒:paddles"として嵌くようにした。 プラスコ 8

直後、1.06クエン数ナトリウム10mlを添加した。5分以 **レスコを概がしながらるしへりて過程された。※親居女** た。この水に、減緩グレードの指数態形態を停留し、ソ 【0108】 フラスコに"WIII-Q" 水500mlを光切し 当した近世末 (18ahos伝導版) で 5 P 8を持した。 し、 類核的に割llipore Nilli-Q (発線路根) 水系で製 関) 石鹸溶液で洗浄し、次いて蒸留水で10回以上洗浄

熱した。 第47不透明な緑色で安定した。 適点近くで全部で45分割 **内に反応接は独由になり、灰ー寮包に救売し、顕然名に**

【安**666615A**】

アー結び、37℃を10分プワーインキュスートつた。 Aーテオフィリン20g1を、ヒツジ抗-テオフィリン14g1 **ノエチルジスルフィドからなる染料剤液を調製した。85** アニリン・イアンベンシー・チャセラスホイラロチラアニ /2宮祖氏) の混合浴製中、約20 μ g/sl で、IL IF ジメチル 酢酸エチル/テトラヒドロフラン/メタノール/水(1/1/2 を、0.02%クエン酸ナトリウム中210μg/mlに希収した。 リウム中100μg/a1に希釈した。ヒツジ抗・テオフィリン を含む85A-テオフィリン接合体を、0.02%クエン酸ナト BSA分子 1 報当たり、平均して17個のテオフィリン分子 デオフィリン接合体の間の免疫反応のSIRE検出法 ヒッシ抗-テオフィリンとウシ血液アルブミン (BSA) â

0 1 (6 Mag)

将阳平6-174723

った。 火いで味色溶液 5 p 1を添加し、37℃で90分イン で、銀コロイドO.Salを添加した。凝集は抵認できなか 極度される当いアークを示した。 Iliam、のラマンシフトに於いて、柴料のジアン治態基は ワードーの製造を使用して記録した。スペクトラは、 化ラマンスペクトルを、488mmに於けるアルゴンイオン サコスートつだ。インサコスーツョン直接性、表担一届

5 RATE OF [从编码15B] [0110]

デオフィリンIg6と顕狭し、実施例15Aの記載と同-アッセイ条件を実施した。ラマンスベクトルの記録か この実験に於いては、同一濃度で抗・通順球菌1g6を抗・ られた物質のたったの13%であった。 は、抗-テオフィリンを使用した場合使用した場合に掛 たが、フーガー液以488mに由来するシャンシフェ1410 の、楽しかのパークが
なだ古徳度がためにとが
られた 戸板後アークが別見された。 これののアークの強度

【実施例15C】 [1110]

[0112] た場合に残られた機関のなったの10kであった。 らのピークの複数は、KSA-テオフィリン様合体を使用し **ラマンシフト1410㎝ に最強ピークが知見された。これ** ることが知見されたが、レーザー裁長48kmに由来する **人クトルの刑機がの、搬しかのパークが形式汽車置かれ** RSA-デオフィリン被合体の代わりに使用した。ラマンス 及び条件下た、BSMを、抗-デオフィリン抗体と併用した この近端に深いでは、近間第15Aの記載と同一の質問 知识定職 【災傷例 | 5 D】 20 μ g/n L架料路級 5 μ 1 とコロイド 1

[0113] S) の右導(1 pg/s1未費) 危後でオーバーロートし当 ン) または市販の界面活性剤 (Tween 20若しくはBrij 3 の添加消に、他の独自賞(例えば、ウシ相談アルノミ コロイドの不安地化を避けるために、コロイドは、 いた資料の概決添加の代わりに使用し得る。発料による 下を製造でき、この気薬を実施第15Aでコロイド、火 ~0.541を混合することにより気料=膨緩完金減コロイ

括抗様式を使用するテオフィリンの洗浄なしイムノアッ **ドドフィリンを、0.02%クエン根類中、140、70、30、**

38 8 試験物に添加し、過熱かせながら組合し、初いて実備的 施囲7 a で記載した20 μ IBSA-テオフィリン接合体を各 各試験管に入れて、空間で30分インキュペートした。実 を記載したビッジゼーチャフィッンのアッコート14glを コート100 p 1サンプルを試験管中に入れた。実施例7 a 6、2.8、0.55放び0.0µg/slで焙解した。各連度のアリ

ビオチニル化ウシ血液アルブミンとセジメチルアミノア ン-BSA-DMB) の製造、接合体の影号 (ピオチン-BSA-BA プベンボンユーインチオシアナートとの複合体(パオチ [実施例17]

一下20 μ1を添加した。指合物を一般概括し、次いたSep hadex G-25 (荒い) カラム (1×30cm) で密極した。 ノアン人ソカソム・インチャッアナートの指摘のアンロ ジメチルホルムアミド中の1 ng/nl 4-ジメチルアミ 8

から購入) (2mg) を15%aHC0、pHs.6 (2ml) に溶解

のオチロル化セン血浴アルプミン(Signa Chemical Co

注語Sによるビオチニル化ウシ血燐アルブミン(DSA)の [8 1 IANSON

質。したコロイドを24例のアリコートに分け、小さなガ ベートした。インキュベーション後、"アビジンー被 ストレプトアロジン (0.02%ゥエン糖販資液中0.1mg/s ストレプトアビジンー被揮撃コロイドへの総合阻害の洗 l, 408μ1) を37℃で1両間鎖コロイド24a1とインキュ

[8110]

返棄者24本全部を37でた45分インキュベートした。クエ 0.45の破灰の間数としてプロットした。 岩泉を図11に 腺盤やソプラとの間の道い者、添加したパオテソーBSA た。 2個の値を平均し、ビオチンー前隣属サンプルと未 **チンと接触させなかったものよりも扱いシグナルを示し** 記録した。遊離ピオチンに指導探したサンプルは、ピオ 展すりの1mlサンプル直導信して、SERSスペクトルを 製得したアスシン接属コロイドの両方言じきそれぞれ2 「格、アスシン被強したロロイドと、選撃アメチン言語 た。希釈したビオチニル $||LRSA-IMB接合体溶液の各100 \mu||$ バオチニル化BSA-BAB接合体の6個類の総数液を製造し ン骸中、12.5、25、50、75、100及び125μg/mlの過度で キチンのアリロート12μ1を12本の実験部に接回した。 ラス製試験管に入れた。クエン酸級衝液中の4.4mg/s1と

の信仰にWightする。プロッターを記録片の上端にWig 抗-HBsAgは、0.5×4cmニトロセルロース試験片の中央 原上に於ける日型肝炎素面抗原(Biskg)気BBアッセイ する。この試験片の展開を、HisAgの所定機を含むヒト [光版] [9]

g

る。インキュスーション後、名指合物を表着スッドによ 也流が知合する。全部合いは存在する即の同に依存す

は、毛細管作別によりM近代抗体を通り越すように上り 由祭120月1からなるサンプルと接触させる。サンプル を、金属粒子に固定化した抗-ドオチン指体につけても

5 SEBBSスペクトルを製造することにより表出される。 の存在及び記録、返復行中央の上記の位置の発車問題の する、ニトロセルロースに固定化した抗-HttsAgの間のい ニル化抗-BsAgに結合する被分析物質(IBsAg)に結合 は、コロイド-国院化ポードオチン技体に結合するドオタ 片上に固定化されている位置付近に最在化する。これ よい。コロイド粒子-栄料-抗体的体は、抗-暗algが、基 を含む金属コロイドで処理する。あるいは、整議契料 抗体10 μ1及び強いSERRSスペクトルを示し得る機績保持 **並体(補助の特別的部位)及び表面固定化的-ビオチン** より補養される。次に、2 μ l/sl ビオチニル化抗-器sk するので、サンブル中のHolgは指定化抗・Holg抗体に ガンド結合反応を介した超らる。被分析物質(Maskg)

総整部のクエン艦場及び水素道元により製造した服コロ 【実施例20】

れるようにコロイド製造に続ける違いを残らか示してい ベクトルを示したが、相対ピーク強度は、図12に示さ ロイドとも、ラマンシフトピークに関して同一SERRSス コロイドは、昭敷敷を水洗道元して製造した。 両方のコ ナトリウムで研修設を選元して製造したもので、他方の 対しの格表語合語液を水中の製造した。いは水道コロイ イドに配けるSEBSのデモンストレーション ドの各サンプルに加えた。一方のサンプルは、ケエン都 ドキャッンC25度時で減犯したメヤフンレラー発送のM

U.を含む6種類の各試験サンプルから取り出し、各々を 2の抗体につけて接合体を形成した。精複試集を0.01mg たSBBSスペクトルを示し得る概識染料(ジメチルアミ 福獲は紫を製造した。粒子を乾燥ミルク0.1%溶液でオー 特別的な抗体を、Somコロイド開催子表面に認定的し、 体を介して接合体に結合し、これにより、軽子にラマン 体を介して親子に結合し、ローサブユニットは抗ーロー病 の間に、存在するECGのβサプユニットは固定化抗-β装 据版技術-嵌合体語合物のアリコート100μ1と指合し と混合した。50 p 1 アリコートを名々、BCG 0 ~ 200ml ークエン機機強減中、過災20 μg/slで接合体を含む倍差 1クエン振展発展、pdf.4を指展して過度0.05%とし、同 ノアンスンカン)がEGO a - サブユニット内特貿易及群 バーコートし、非一特別的総合を推奨した。 はっきりし とト級地程ゴナドトロピン (HCG) の身サブユニットに と上級毛性ゴナドトロピン (HCG) のSERESアッセイ 【集務例21】 火いた現合物を浸漉た30分インキュベートした。

> と、フィルタ表面の粒子が密に充填しているので製化な SEESSスペクトルを表示させるのに十分な光を担制する 体を保持している。次いで、指摘模型分子にSEESまたに NOA統分析物質を介してこれらに結合した粒子及び接合 を介して下の吸着パッドに吸引する。 フィルタ表面は ンプリに適回し、未然会要合体を行む接体は、レイラル り支持されているフィルタからなる別割のフィルタアも

ましい影響の着々の変形及び改賞が目記である。このよ よって定義される。当業者には、上記表示の範囲内で好 れらによって限定されず、付記請求項及びその均等物に 関示及び説明するためのものである。 本発明の範囲は2 米をさらに結構し答る。 【0119】消滅の本が別の好ましい態報は、本分別の

付記請求利によって従漢される本発明の職所に合まれ 国語の野半な説明

うな改賞及び契形は、本知明を追続するものではなく

表面を、相面試験機で探査した際の針入状況を示す図で 【図1】作成した状態での化学的に沈積した親フィルム

4倍に拡大した)のラマンスペクトルを示す限である。 イルムの非・存在下での2,4・ジニトロベンゼン、10 -RSASE: 10 沈柳した銀フィルムの存在下での2,4-ジニトロフェニル の2.4-ジニトロベンカン結集、10 M、(B) 名字形は (特徴をはっきりさせるために A 及びBに対して緩動を 【図2】(A) 化学的に花根した銀フィルムの存在下で **M (WP部分に関して)、(C) 親フ**

FIL 10089. 1(17), Stuff: MAGINELL, 457.9ns **スペクトルは禁むった。スペクトル販渉条件:搬歩**器 ハジン板橋表面 (C) からは、この短葉では議SPI版な SERESスペクトルを示す例である。脳路の非一存在下のア ュ人ートラな行列的古祝祭ラな親フィルムから街られた 中で製造したアスジンの2.5×10°M部隊、中のインキ 【図4】M8-杭-TSB抗体接合体を使用するTSB抗原の 【据3】(A) BABAの3m指接及び、(B) BABA0.3ml

次いでDAB-抗-TSB抗体接合体のMD μg/sl沿液に移して指 合む治液中の損後抗体一級原稿指をインチュベートし、 ル。プロット (B) 、 (C) 、 (D) 、 AB-抗-TSH抗体接合体の40 μ g/ml 耐液のSERSスペクト 40 μ g/ml溶液に移した。(A)築表面の非-存在下での[顔でインキュペートし、次いでIMB-抗-TSH抗体接合体の 抗-TSH植機抗体で被覆した縦端陽を積々の適度のTSH抗 的なSEERSスペクトルの混合プロットを示す図である。 (F) は、各々、TSBが原を0、4、10、25及び60 p 10 "サンドイッチ" イムノアッセイに於いて得られた典型

所す図である。 歯は、 鏡筒薬上の5しの異なる風形なの として、1410cm。に於ける平均SERES強度のプロットを

の創定の平均を表す。括拠内に挿入した数字は、 (場抗原繊維を示す図である。 各データポイントは、 た名TSH抗影衝疫毎の安衛係数(標準環形/平均)であ No.6207) の減炎を使用して行られた吸収 (492m) 対 【図 6 】 お限の都様イセノアッカイキット(Abott Uab

¬ポレレンクの徴レイラスのX K クァラ、(±)p-シメ 当の非-存在下で実施した指摘状態のスペクトルに加算 おソセツ何当アラアハソ版の存む、必定言義活つ、戦時 【図7】(下)Zūng/nlでp-ジメチルアミノーアンベン

ッセイ及び、HOG直接の開教としてプロットしたSEBISE ゴナドトロバン(HOS)の最軽技術の名がなつ人ユノア ポーター分子を用いてフタ自選中で製造したれて製造的 人クマラを形を置わるる。 よって得られたスペクトルの近しR動物を用いるSEESス **認治液中にプランクと同じ銀フィルムを浸漉すること**は **キラアミノアンベンホンシッ母総アラアミン協会体の**J 【図8】他ロロイド、クワシグ・プフット研修者がはい

値を示す図である。 【図9】会コロイド、クレシル・ペーシャ製件または

bhC3812, 457.9nm

スペクトル獲得条件:獲得時間、1949:第71、41mW

ロットしたSERKS説収値を示す図である。

昭市の近季なしの泰出を示す因である。 たウシ血液アルブミン(完全な接合体の期間はアメチン アゾベンゼン (MB)]、及びピオチンの両方に接合し 【図11】発料またはリボーター分子「ジメチルアミン

マン製造 (SERS) スペクトルを示す図たある。 ンプルー: オキサジン755の20:1減合物の表面-強化: **始のいかれがを用った製造した、後ロロイド Hのメチリ**

6

粉網平6-174723

【図5】既知のTSB標準試料に関するTSB近原適度の閲覧

得、平均したものである。第近した各TSEEU原義度等に

した表分子物質の治療尿片関する物質保質(衛子進売) 1本の電極を使用した。括質均に挿入した数字は、

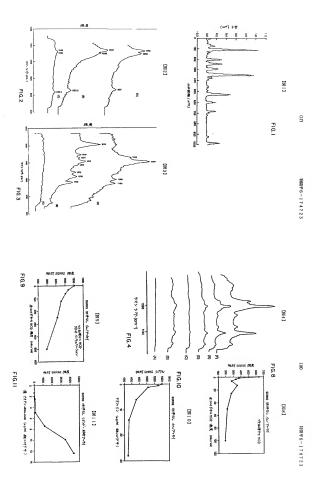
半四) である。

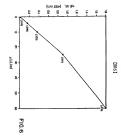
収値を示す図である。

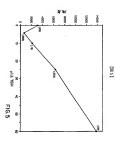
セイ及び、HOS構成の関数としてプロットしたSHESIGN ゴナドトロアン (ECG)の数件近隣の数/(なし人なノアッ **ポーター分子を出ってれて同席子を製造しなれて製造し** 【図10】 銀コロイド、N,N-ジメチルアニリンペーアノ

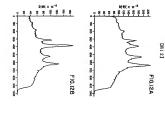
イユノアッセイ及び、チネフィンン資気の困難としたし 議画派中の製造したテメフィジンの政権以外の完合な ルフィド吸料またはリポーター分子を用いて、クエン書 **ベンシラー・チャセラバホイラコチラアミノコチラジス**

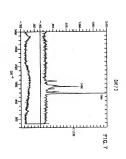
てブロットしたSERS説教術による、ストレプトアビジ -ESA-MUである]の、ピオチン-ESA-DBM表現の開致と ソー被機鎖コロイドに対する困難でオチンによる結合の 【図12】選元列として(A)水素及び(B) クエン艦











特間平6-174723

(20)

(19)

特開平6-174723

(72)989者 ジエイムス・ジェイ・マーカス アメリカ合衆国、イリノイ・60515、ダウ ナーズ・グロウブ、サーテイーシツクス ス・ストリート・550

(21)

特間平6-174723

(12) 前側部 デトーギ・コリトン
アメリカを開山 アイタ・50 m.0. エイ
アメリカを開山 アイタ・50 カー・30 m.0. エイ
エス・ドラ・イフ・43 m.0. エイ
エス・ドラ・イフ・43 m.0. エイ
エス・ドラ・グラ・エカ・・32 m.0. エイ
にある、オンズ曲、エフ・ドライ・30 m.0. エイ
にある、オンダーとから、アクテーとから、アクテーとから、アクテーとから、アクテーとからのできない。